

NOUVEAUTES DANS LA RECONSTRUCTION CUTANEE: CULTURES DE CELLULES ET SUBSTITUTS DERMiques ET REVUE DE LA LITTERATURE

Koch N., Erba P., Benathan M., Raffoul W.*

Service de Chirurgie Plastique, Reconstructrice et Esthétique, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois (CHUV), Lausanne, Suisse

RESUME. La prise en charge de patients souffrant de brûlures profondes et étendues reste un défi important pour les chirurgiens reconstructeurs. Ceci est d'autant plus vrai que les grands progrès réalisés dans la réanimation assurent actuellement la survie de patients brûlés sur plus de 90% de leur surface corporelle. De ce fait la reconstruction moderne a dû innover et est devenue une chirurgie complexe nécessitant un plan stratégique impliquant des matériaux et des méthodes chirurgicales multiples adaptées à chaque situation clinique. Ce type de prise en charge nécessite aussi la collaboration étroite et coordonnée de plusieurs équipes hautement spécialisées. Le taux de survie ainsi que de la qualité de vie de ces patients sont alors nettement améliorés. De même nous observons clairement que le nombre de complications secondaires telles que les rétractions et les instabilités cicatricielles ont également diminué de façon significative.

Mots-clés: brûlure, greffe, culture, substitut dermique, reconstruction

Introduction

La prise en charge des brûlures profondes et étendues reste un grand défi, tant pour les réanimateurs que pour les chirurgiens reconstructeurs. L'amélioration du soutien nutritionnel ainsi que de la prise en charge des complications infectieuses a néanmoins permis une nette amélioration de la survie des patients. Concernant le traitement chirurgical, la greffe de peau a été une révolution majeure dans le traitement des grands brûlés.¹ Or cette technique a ses limites :

- la surface de greffe que l'on peut prélever dépend de la surface des tissus sains résiduels
- elle ne reconstitue que la partie la plus superficielle de la peau (épiderme et partie superficielle du derme) favorisant la rétraction et l'instabilité cutanée

Ainsi, le chirurgien reconstructeur est confronté à deux problèmes majeurs chez le grand brûlé: la quantité limitée de greffe et la restitution partielle des tissus détruits. C'est dans ce contexte que des substituts cutanés, culture de cellules cutanées et matrice de régénération dermique, ont été introduits dans le traitement des brûlures graves et étendues. Actuellement, ils sont au centre de notre stratégie de reconstruction.

Historique de la culture des cellules cutanées

La première application de cultures de kératinocytes, c'est-à-dire des «cultured epithelial autografts» («autogreffes épithéliales cultivées», sigle anglais «CEA»), dans la prise en charge des brûlés a été décrite par Rheinwald et Green en 1975.² Actuellement, la méthode initiale modifiée permet d'obtenir en 15 jours plusieurs centaines de centimètres de transplants formés de 6 à 8 couches superposées de kératinocytes. Les CEA permettent de recouvrir d'un épithélium fin des surfaces importantes chez des patients présentant des sites donneurs limités, de ré-épithélialiser rapidement des zones de prélèvement de greffe et enfin d'éviter les douleurs dues aux prises de greffe. Néanmoins, lors de cette période de culture, le patient reste susceptible au sepsis, qui reste la cause majeure de mortalité.³ Cette technique a révolutionné la prise en charge des brûlures. Dans notre expérience il y a un bénéfice évident (survie, durée de séjour, coût) quand la surface brûlée dépasse le 50% de la surface corporelle chez l'adulte et 30% chez l'enfant.⁴

* Corresponding author: Wassim Raffoul, MD, Service de Chirurgie Plastique, Reconstructrice et Esthétique, Rue du Bugnon 21, 1011 Lausanne, Switzerland. Tel.: 041 21 314 11 11; fax: 0041 21 314 25 30; e-mail: Wassim.Raffoul@chuv.ch

Notre expérience avec les cultures de cellules épithéliales

Dès 1986, le Centre Hospitalier Universitaire Vaudois à Lausanne (CHUV) se dote d'un laboratoire de cultures cellulaires dédié spécifiquement à l'élaboration de transplants de kératinocytes, c'est-à-dire les CEA.⁵ La méthode originale utilisée initialement a permis de traiter un grand nombre de patients gravement brûlés au CHUV et dans les deux centres de brûlés zurichois (Hôpital Cantonal et Kinderspital).⁶ Dans l'évaluation de l'une de nos séries, le taux de prise des greffes de kératinocytes était en moyenne de 65%, avec des extrêmes allant de 0 à 100%. Certaines études présentent des prises de greffe de 50 à 70%⁶⁻⁸ alors que d'autres rapportent des taux bas allant à une prise complète.⁹ Les résultats sont en général meilleurs chez les patients jeunes et dans les cas où une partie du derme a pu être préservée. Par ailleurs le taux de prise de greffe est également augmenté lorsque les CEA sont parfaitement immobilisées sur le site receveur par l'usage de la colle de fibrine, qui joue aussi un excellent rôle de matrice de régénération de ces cellules après leur transplantation chez le patient. Ces résultats initiaux ont pu être expliqués par un autre travail que notre groupe a publié¹⁰ et qui a démontré que ces cultures contenaient uniquement 5 à 8% de cellules souches capables de former des colonies de régénération des cellules épithéliales. Chez le patient jeune, le nombre de cellules souches est plus élevé que chez la personne âgée et le taux de multiplication est plus élevé, ce qui explique de meilleurs résultats dans ce groupe. Malgré les progrès réalisés (antibiothérapie ciblée, support nutritif en protéine et antioxydants),^{11,12} l'infection reste le risque majeur et peut entraîner une perte complète de la greffe de CEA.^{13,14}

Actuellement il est démontré que les CEA permettent d'améliorer le taux de survie des patients gravement brûlés,^{15,16} mais des problèmes cicatriciels et cosmétiques persistent. En effet, seule une couverture épidermique fine est assurée. Or les brûlures profondes détruisent les trois couches de la peau. Par conséquent, les principaux désavantages de cette méthode sont la durée de fabrication, la variabilité de la prise des greffes, le coût, la faible résistance aux infections ainsi que l'instabilité cutanée mécanique à long terme. Selon notre expérience, l'application de CEA sur des greffes de peau fine en filet avec de larges mailles (technique sandwich)¹⁷ permet d'obtenir de meilleurs résultats en termes de prise de greffe et de résistance mécanique à long terme. Ceci peut s'expliquer par deux mécanismes:

1. les fibroblastes présents dans la greffe en filet libèrent de nombreux facteurs de croissance, stimulent les kératinocytes cultivés et favorisent la stabilité cutanée¹⁸
2. les CEA permettent une cicatrisation primaire et rapide des mailles des greffes autologues, réduisant

de ce fait le risque de rétraction secondaires

Cliniquement, nous observons également que les résultats sont meilleurs et la prise plus complète chez les patients où une fine couche de derme peut être préservée ou dans le traitement des zones de prélèvement de greffe. Dans cette dernière indication, la cicatrisation de la zone de prélèvement est accélérée, ainsi un nouveau prélèvement peut être réalisé plus rapidement et plus fréquemment sans risque de retard de cicatrisation.¹⁹ De même nous observons que la douleur provoquée par le prélèvement est nettement atténuée et qu'à long terme la cicatrice du prélèvement est plus stable et nettement supérieure du point de vue cosmétique.

En cas de brûlures profondes, il s'est avéré que la prise était meilleure lorsque les greffes cultivées étaient posées sur un fascia que lorsqu'elles étaient fixées directement sur le tissu adipeux. Ces observations sont expliquées par le rôle essentiel du fibroblaste dans la croissance du kératinocyte et l'importance des échanges qui se font entre le derme et l'épiderme.^{20,21}

Un autre problème rencontré après greffe de kératinocytes de culture est l'instabilité de la cicatrice en relation avec la reconstruction incomplète des structures de la peau. Lors des premiers mois ou années, on observe fréquemment la formation de phlyctènes et ulcérations principalement dans les régions exposées (articulations, zones d'appui et de frottement). Par contre aucune augmentation significative de l'instabilité cutanée ou du développement de tumeur cutanée n'a été constatée par rapport aux greffes de peau fine en filet même en zones exposées aux rayons du soleil.

Par conséquent l'utilisation des CEA permet une augmentation du taux de survie des patients gravement brûlés malgré des résultats fonctionnels et cosmétiques persistants. Cette technique doit donc être réservée pour des patients présentant des lésions extensives sévères et peut être améliorée par l'association de greffes de peau fine ou lors de présence de derme sur le lit receveur, ce qui favorise une diminution de la contraction secondaire des plaies.²²

Cultures bi-couches de cellules cutanées kératinocytes / fibroblastes

Les cultures de kératinocytes seuls étant insuffisantes tant du point de vue de la prise de greffe que du résultat fonctionnel et esthétique, nous avons procédé à la préparation de cultures associant des fibroblastes aux kératinocytes. Ces deux types de cellules ont un mécanisme d'action étroitement lié. En effet, les kératinocytes sont les premières cellules à promouvoir la réponse inflammatoire par la production de cytokines, ces dernières stimulant directement la production de cytokines pro-inflammatoires et de facteurs de croissance au niveau des fibroblastes et qui à leur tour stimulent la prolifération de kératinocytes.²³

Ces deux types de cellules ont été particulièrement difficiles à associer en raison de leur cinétique, qui est totalement différente. En effet les fibroblastes se multiplient beaucoup plus rapidement que les kératinocytes et par conséquent empêchent une croissance linéaire de ces derniers. *In vitro* les cultures de kératinocytes et fibroblastes sont par conséquent préparées séparément puis superposées avant d'être transplantées. L'élaboration de ce type de préparation est complexe et la durée d'environ cinq semaines. Malgré la difficulté de préparation, on obtient une culture plus épaisse et plus robuste que lors de kératinocytes seuls.

Les avantages de ces cultures comparativement aux kératinocytes seuls sont d'une part le taux de prise supérieur à 95% contre 60%, la nette diminution de rétraction secondaire, l'amélioration de l'aspect cosmétique et une meilleure élasticité ainsi qu'une meilleure résistance aux traumatismes.

Il est également possible d'associer ces cultures bicellulaires aux substituts dermiques (ce qui n'est pas possible avec les cultures de kératinocytes seuls). Ce sujet sera développé ultérieurement.

Finalement, l'indication à ce type de culture est limitée à notre sens à la couverture de zones sensibles telles que le visage, le cou, les mains et les pieds ainsi que les zones articulaires et d'appui chez les grands brûlés (>50% de la surface corporelle totale brûlée).

Substituts cutanés temporaires

Les anciens Egyptiens utilisaient des feuilles de papyrus comme substituts cutanés. De nos jours, les pelures de bananes sont encore utilisées comme pansement initial dans de nombreux pays du tiers monde.

Actuellement de nombreux matériaux sont utilisés. Ils ne permettent qu'une couverture temporaire jusqu'à l'application de greffes définitives. Le but de leur utilisation est d'éviter la dessiccation des cellules du lit de la plaie en préservant un milieu humide, de réduire le risque de complications infectieuses après le débridement des tissus nécrotiques, de diminuer les douleurs en raison de la couverture nerveuse ainsi que la diminution des pertes de fluides, de protéines et d'électrolytes et, de ce fait, d'obtenir la stabilisation globale du patient.²⁴

Les xénogreffes (peau de porc dévitalisée, E-Z Derm®), les allogreffes [peau de cadavres humains préservée dans le glycérol] ainsi que les matériaux synthétiques [Biobrane®] sont utilisés régulièrement dans les centres de brûlés dans le but de préserver le lit de la plaie débridée.

La peau de porc dévitalisée (*Fig. 1*) est probablement le produit le plus utilisé à travers le monde étant donné la facilité de son utilisation et de son stockage.²⁵ Elle permet une diminution des hématomes et des séromes en raison des propriétés hémostatiques du collagène bovin. Elle pré-

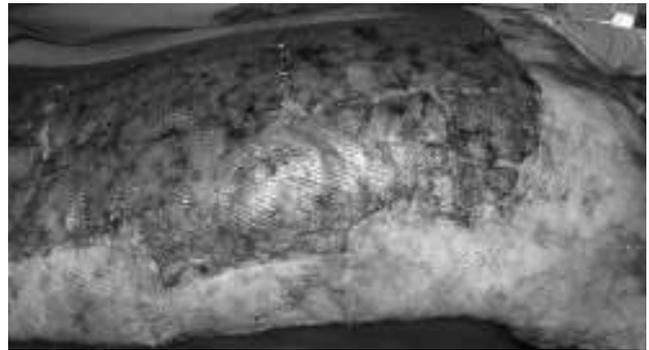


Fig. 1 - Xénogreffes posées après débridement d'une brûlure.

sente également des propriétés antibactériennes dont l'origine est multifactorielle.²⁶ Néanmoins son utilisation sur le visage n'est pas indiquée en raison de la possibilité de tatouage correspondant au meshage de cette peau porcine.²⁷

La peau de cadavre humain est actuellement livrée sous trois formes différentes. Elle peut être soit préservée dans du glycérol, ce qui lui assure une sécurité bactérienne, virale et fongique, soit cryopréservée, soit fraîche. La peau de cadavre cryopréservée présente de meilleures propriétés d'intégration que la peau glycérolée²⁸ mais néanmoins inférieure à celle de la peau de cadavre fraîche.²⁹ L'inconvénient de cette dernière est sa courte durée de préservation, qui ne doit pas dépasser sept jours.

Des pansements synthétiques tels que le Biobrane®³⁰ permettent également une couverture temporaire des brûlures avec une meilleure protection contre les infections et les pertes liquidiennes. Par contre, l'intégration sur le site receveur de ce produit rend son ablation parfois difficile et laisse parfois des croûtes douloureuses. L'étanchéité importante de ce produit augmente le risque infectieux local.

Substituts cutanés permanents

Une nouvelle étape décisive dans la reconstruction de la peau a été franchie avec le développement et la mise sur le marché de nouveaux substituts dermiques permanents. En effet, comme décrit plus haut, les cultures de kératinocytes ont permis de résoudre le manque d'épiderme alors qu'il n'était pas possible de reconstruire le derme. Or le derme donne la structure et l'aspect cosmétique de la cicatrice. Un substitut dermique est une matrice qui permet de régénérer une couche dermique. Différents substituts existent sur le marché. En général, ils sont d'origine animale et constitués de fibre de collagènes et élastiques associés à des gluco-amino-glycanes. La matrice est appliquée sur le lit de la plaie après débridement. La plaie doit être parfaitement propre et viable. Un tissu de granulation organisée se développera et formera le néo-derme. La reconstruction cutanée à l'aide de ces substrats peut



Fig. 2 - Matriderm® 1 mm et greffe de peau fine pour une brûlure du troisième degré au visage.



Fig. 3 - Chéloïde cervical postbrûlure.



Fig. 4 - Correction de chéloïde cervical par Integra® et greffe de peau fine.

être effectuée en un ou deux temps opératoires. L'intégration de ce matériel peut être accélérée à l'aide d'une thérapie à pression négative (la «vacuum assisted closure» VAC c'est-à-dire la cicatrisation par pression d'air négative). Les deux matériaux utilisés dans notre centre sont l'Integra® et le Matriderm®.

L'Integra® est l'équivalent dermique le plus ancien. Il s'agit d'un substitut de peau, sans cellules, composé de deux couches. La couche superficielle est composée d'une membrane de silicone alors que la couche profonde est composée de collagène bovin type I et de glycane de glycosamine. Cette dernière contient des pores (entre 70 et 200 microns) dans lesquels les fibroblastes et les cellules endothéliales du patient peuvent croître. Cette couche intérieure subit donc une dégradation complète progressive avec une conversion biologique du tissu étranger en tissu corporel du patient.³¹ Cette forme nécessite donc une phase d'intégration d'une durée de trois semaines. Cette phase est dangereuse en raison du risque infectieux. Elle nécessite des soins et une surveillance particulièrement attentifs.³²

Une nouvelle forme d'Integra monocouche a été mise sur le marché actuellement. Elle est composée de collagène d'origine bovine et de chondroïtine 6-sulfate. Cette surface peut être recouverte immédiatement par une greffe de peau mince. Aucune étude n'a encore été publiée concernant cette nouvelle forme.

Le Matriderm®³³ est constitué d'une matrice dermique hautement poreuse de collagène bovin de type I, II et V et d'élastine. La matrice sert de support à la croissance des vaisseaux et des cellules. L'élastine permet d'améliorer la stabilité et l'élasticité du tissu. Ce produit est disponible en deux formats: soit 1 mm, ce qui permet la pose de greffe cutanée dans le même temps opératoire, soit 2 mm, ce qui

nécessite également son intégration durant 4 à 5 jours avant d'effectuer la greffe cutanée. Le Matriderm® de format 1 mm présente évidemment l'avantage d'un risque infectieux diminué et d'un seul temps opératoire (Fig. 2).³⁴

Notre expérience avec ce matériel concernait au début la correction de cicatrices chéloïdiennes secondaires à des brûlures localisées dans des zones fonctionnelles (cou, creux axillaire et autres plis articulaires). Les excellents résultats obtenus dans ces cas (Figs. 3, 4) nous ont encouragés à réaliser d'autres reconstructions chez les grands brûlés et en particulier dans les zones sensibles (visage, plis articulaires). Dans cette indication, le risque infectieux est grand. En cas d'infection, le matériel est perdu et la reconstruction différée jusqu'à ce que le processus infectieux soit sous contrôle. Dans notre expérience l'utilisation de substituts dermiques permet d'éviter dans de nombreuses situations les rétractions secondaires, l'hypertrophie cicatricielle et le développement de chéloïdes, qui sont les complications les plus fréquentes en cas de brûlures et greffes. Actuellement, il n'y a pas de consensus concernant le choix et les indications pour l'utilisation d'un substitut dermique.³⁵

Plusieurs publications ont montré l'impossibilité d'associer les cultures de kératinocytes avec les substituts dermiques. Ces derniers ne constituent pas un environnement favorable à la survie des kératinocytes. Nous avons résolu ce problème en utilisant des greffes de culture formées de kératinocytes et fibroblastes comme décrites précédemment. Des biopsies réalisées après plusieurs semaines ont montré l'apparition d'un derme quasi normal. Dans ces cas, la rétraction a été minimale ou inexistante et l'aspect cosmétique très satisfaisant et inégalé par n'importe quelle autre technique de reconstruction, surtout chez les grands brûlés (Fig. 5). Nous avons évalué les propriétés bioméca-



Fig. 5 - Integra® et cultures de kératinocytes et fibroblastes chez un patient brûlé sur 97% de la surface corporelle totale.

niques de la peau reconstruite et avons montré que l'on pouvait retrouver par ce type de reconstruction des valeurs fonctionnelles physiologiques. Le coût élevé de ces produits limite leur usage et actuellement nos indications sont limitées aux brûlures profondes de la face, des plis de flexion et des pieds ainsi que pour les corrections secondaires de certaines cicatrices hypertrophiques ou chéloïdiennes.

Conclusion

L'avancée technologique concernant les substituts cutanés s'est nettement améliorée durant les dix dernières années. Après une première génération nécessitant deux interventions, la seconde a permis de n'effectuer qu'un seul temps opératoire et la diminution du risque infectieux. Le suivi à long terme permet l'observation d'excellents résultats esthétiques avec un minimum de cicatrice hypertrophique et de tissu rétractile. Néanmoins, le coût de ce matériel reste important.

SUMMARY. The management of patients with deep extensive burns remains a major challenge for reconstructive surgeons. This is especially true with the considerable progress that is currently being achieved in resuscitation procedures that permit the survival of patients with burns in over 90% of their body surface. Modern reconstruction techniques have had to innovate and become a complex surgery requiring a strategic plan involving materials and multiple surgical procedures tailored to each clinical situation. This type of care also requires the close and co-ordinated collaboration of several highly specialized teams. The survival rate and quality of life of these patients have thus much improved. We have likewise observed that the number of secondary complications such as contractures and scarring instabilities have also significantly decreased.

Keywords: burn, graft, culture, dermal substitute

BIBLIOGRAPHIE

1. Burke JF, Bandoc CC, Quinby WC: Primary burn excision and immediate grafting: A method for shortening illness. *J Trauma*, 14: 389-95, 1974.
2. Rheinwald JG, Green H: Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: The formation of keratinizing colonies from single cells. *Cell*, 6: 331-43, 1975.
3. Chester DL, Balderson DS, Papini RPG: A review of keratinocyte delivery to the wound bed. *J Burn Care Rehabil*, 25: 266-75, 2004.
4. Herndon DN, Barrow RE, Rutan RL et al.: A comparison of conservative versus early excision: therapies in severely burned patients. *Ann Surg*, 209: 547-53, 1989.
5. Deglise B, Benathan M, Frenk et al.: Preliminary results of burn treatment using an autograft of cultured epidermis. *Schweiz Med Wochenschr*, 12: 117:1 380-3, 1987.
6. Gobet R, Raghunath M, Altermatt S: Efficacy of cultured epithelial autologues in pediatric burns and reconstructive surgery. *Surgery*, 121: 654-61, 1997.
7. Odessey R: Addendum: Multicenter experience with cultured epidermal autograft for treatment of burns. *J Burn Care Rehabil*, 13: 174-80, 1992.

8. Carsin H, Ainaud P, Le Bever H et al.: Cultured epithelial autografts in extensive burn coverage of severely traumatized patients: A five-year single-center experience with 30 patients. *Burns*, 26: 379-87, 2000.
9. Elliott M, Vandervord J: Initial experience with cultured epithelial autografts in massively burnt patients. *ANZ Surg*, 72: 893-5, 2002.
10. Vernez M, Raffoul W, Gailloud-Matthieu MC et al.: Quantitative assessment of cell viability and apoptosis in cultured epidermal autografts: Application to burn therapy. *Int J Artif Organs*, 26: 793-803, 2003.
11. Berger M, Spertini F, Shenkin A et al.: Trace elements supplementation modulates pulmonary infection rates after major burns: A double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr*, 68: 365-71, 1998.
12. Raffoul W, Shahinfar M, Cayeux MC et al.: Nutritional status and food intake in 9 patients with chronic low limb ulcers and pressure ulcers: Importance of oral supplements. *Nutrition*, 22: 82-8, 2006.
13. Paddle-Ledinek JE, Cruickshank DG, Masterton JP: Skin replacement by cultured keratinocyte grafts: An Australian experience. *Burns*, 23, 204-11, 1997.
14. Blight A, Fatah MF, Datubo-Brown DD et al.: The treatment of donor sites with cultured epithelial grafts. *Br J Plast Surg*, 44: 12-14, 1991.
15. Carsin H, Ainaud P, Le Bever H et al.: Cultured epithelial autografts in extensive burn coverage of severely traumatized patients: A five-year single-center experience with 30 patients. *Burns*, 26: 379-87, 2000.
16. Boyce ST, Warden GD: Principles and practices for treatment of cutaneous wounds with cultured skin substitutes. *Am J Surg*, 183: 445-56, 2002.
17. Braye F, Dumortier R, Bertin-Maghit M et al.: Les cultures d'épiderme pour le traitement des grands brûlés. Etude sur deux ans (18 patients). *Ann Chir Plast Esthet*, 46: 599-606, 2001.
18. Goulet F, Poitras A, Rouabhia M: Stimulation of human keratinocyte proliferation through growth factor exchanges with dermal fibroblasts *in vitro*. *Burns*, 22: 107-12, 1996.
19. Fratianne R, Papay F, Housini I: Keratinocyte allografts accelerate healing of split-thickness donor sites: applications for improved treatment of burns. *J Burn Care Rehabil*, 4: 148-54, 1993.
20. Mujaj S, Manton K, Upton Z: Serum-free primary human fibroblast and keratinocyte co-culture. *Tissue Eng Part A*, 16: 1407-20, 2010.
21. Bader RA, Kao WJ: Modulation of the keratinocyte-fibroblast paracrine relationship with gelatin-based semi-interpenetrating networks containing bioactive factors for wound repair. *J Biomater Sci Polym Ed*, 20: 1005-30, 2009.
22. Atiyeh BS, Costagliola M: Cultured epithelial autograft (CEA) in burn treatment: Three decades later. *Burns*, 33: 405-13, 2007.
23. Werner S, Krieg T, Smola H: Keratinocyte-fibroblast interactions in wound healing. *J Invest Dermatol*, 127, 998-1008, 2007.
24. Saffle JR: Closure of the excised burn wound: Temporary skin substitutes. *Clin Plast Surg*, 36: 627-41, 2009.
25. Bromberg BE, Song IC, Mohn MP: The use of pigskin as a temporary biological dressing. *Plast Reconstr Surg*, 36: 80-90, 1965.
26. Chiu T, Burd A: "Xenograft" dressing in the treatment of burns. *Clin Dermatol*, 23: 419-23, 2005.
27. Chiu T, Shah M: Porcine xenograft dressing for facial burns: Beware of the mesh imprint. *Burns*, 28: 279-82, 2002.
28. Bravo D, Rigley TH, Gibran N: Effect of storage and preservation methods on viability in transplantable human skin allografts. *Burns*, 26: 367-78, 2000.
29. Cinamon U, Eldad A, Chaouat M: A simplified testing system to evaluate performance after transplantation of human skin preserved in glycerol or in liquid nitrogen. *J Burn Care Rehabil*, 14: 435-9, 1993.
30. Ou LF, Lee SY, Chen YC et al.: Use of Biobrane in pediatric scald burns - experience in 106 children. *Burns*, 24: 49-53, 1988.
31. Nguyen DQA, Ptokar TS, Price P: An objective long-term evaluation of Integra (a dermal skin substitute) and split-thickness skin grafts, in acute burns and reconstructive surgery. *Burns*, 36: 23-8, 2010.
32. Kearney JN: Clinical evaluation of skin substitutes. *Burns*, 27: 545-51, 2001.
33. Van Zuijlen PPM, Van Trier AJM, Vloemans JFPM: Graft survival and effectiveness of dermal substitution in burns and reconstructive surgery in a one-stage grafting model. *Plastic Reconstruct Surg*, 106: 615-23, 2000.
34. Haslik W, Kamholz LP, Nathschlager G: Andel H, Meissl G, Frey M: First experience with the collagen-elastin matrix Matriderm as a dermal substitute in severe burn injuries of the hand. *Burns*, 33: 364-8, 2007.
35. Atiyeh BS, Hayek SN, Gunn SWA: New technologies for burn wound closure and healing. Review of the literature. *Burns*, 31: 944-56, 2005.
36. Betsi E, Kalbermatten D, Raffoul W: Autologous cell cultures in the surgical management of the hand in dystrophic epidermolysis bullosa. *J Hand Surgery European*, 32 (suppl. 1): June 2007.
37. Benathan M, Darwiche S, Raffoul W: Human epidermal cultures screened for residual murine feeder cells – no contaminants found. *Burns*, 35 (suppl. 1): S20, 2009.
38. Applegate LA, Scaletta C, Hirt-Buri N et al.: Whole-cell bioprocessing of human fetal cells for tissue engineering of skin. *Skin Pharmacol Physiol*, 22: 63-73, 2009.
39. Cass DL, Meuli M, Adzick NS: Scar wars: Implications of fetal wound healing for the pediatric burn patient. *Pediatr Surg*, 12: 484-9, 1997.

This paper was accepted on 23 September 2010.